

【原著・臨床】

小児由来肺炎球菌の薬剤感受性と PBP 遺伝子の検討

織田 慶子・沖 真一郎

聖マリア病院小児内科*

(平成 15 年 7 月 17 日受付・平成 15 年 11 月 5 日受理)

2001 年に小児から分離された肺炎球菌 96 株の経口、静注抗菌薬に対する薬剤感受性、血清型、PBP 遺伝子の変異を検討した。呼吸器由来 91 株、血液 2 株、髄液 3 株であった。全体のペニシリン耐性率は (penicillin G に対する MIC が 0.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上を耐性とする) 70/96, 73% であった。経口抗菌薬でもっとも抗菌力に優れていたのは faropenem であった。静注用セフェム系薬では MIC₉₀ では cefotaxime, ceftriaxone, cefpirome, cefozopran に 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ でほとんど差がなく、カルバペネム系薬の panipenem が 0.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と良好な抗菌力を示すのみであった。血清型では 23 F, 6 B, 19 F が全体の 73% を占め (70/96), 特に 6 B は約 1/3 が MIC 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上であった。現在米国で行われている 7 価肺炎球菌ワクチンでは今回の分離株の 83% をカバーすることができた。PBP 遺伝子の検討では、たとえペニシリン感受性菌でも耐性遺伝子をもつ株が存在しており、PBP の変異の広がり危険された。

Key words: 小児, 肺炎球菌, 薬剤感受性, 血清型, PBP 遺伝子

近年、特に小児領域で肺炎球菌の耐性化が問題となっている。今回われわれは久留米大学小児科と、その関連病院である聖マリア病院小児内科を受診した児より分離された肺炎球菌の主要抗菌薬に対する薬剤感受性と、その PBP 遺伝子の変異を検討したので報告する。

I. 材料と方法

2001 年に久留米大学、もしくは聖マリア病院を受診し、肺炎球菌を分離した 96 例、96 株で検討した。

肺炎球菌の同定はオプトヒン、バシトラシン法ののち胆汁酸分解試験で決定した。薬剤感受性試験は日本化学療法学会標準法で、寒天希釈法¹⁾で行った。血清型は Staten 社の抗血清を使用した。PBP 遺伝子の検討は Nagai²⁾らの方法にしたがった。Penicillin G (PCG) 感受性 (penicillin-susceptible *Streptococcus pneumoniae*, PSSP), 耐性菌 (penicillin-non-susceptible *S. pneumoniae*) の定義は NCCLS にしたがって、PCG の MIC が 0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ までを PSSP, 0.125–1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ までを penicillin-intermediate susceptible *S. pneumoniae* (PISP), 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上を penicillin-resistant *S. pneumoniae* (PRSP) とした³⁾。

II. 結果

Table 1 に患者背景を示す。何らかの基礎疾患をもつ児は 21 例で、内訳は Table に示すごとくであった。性別では女兒がやや多かった。年齢は 3 か月から 9 歳、平均 1.8 歳であった。1 歳代にもっとも多く分離された (51/96, 53%)。乳児期には 21 株、22% が分離されていた。入院を必要とした症例は 60 例であった。

菌株の由来は呼吸器由来 91 株、血液 2 株、髄液 3 株であった。薬剤感受性を Tables 2, 3 に示す。PSSP 24 株、PISP 46 株、PRSP 26 株で、いわゆる PCG 耐性株が 73% を占めた。内服の抗菌薬では概していえばセフェム系薬の MIC の上昇がめだつ。MIC は faropenem (FRPM) がもっとも良好であり、次いで cefditoren (CDTR) であったが、CDTR でさえ PSSP ですでに MIC 分布が 0.016 から 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ におよんでいた。注射薬でも同様にセフェム系薬の耐性化が進んでおり、PISP ですでに MIC が 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を超える株が散見されている。カルバペネム系薬ははまだ良好な MIC を示しており、panipenem (PAPM) がもっとも良好な抗菌力を示した。

Table 1. Patient profiles

Age (mean)	3 mo–8 y (1.8 y)
Male	56
Underlying disease	
CP, MR	12
asthma	7
anomaly	3
neoplastic disorders	2
metabolic disorders	1
others	1
Infections	
LRI	78
OMA	13
meningitis	3
bacteremia	2
Inpatients	60

*福岡県久留米市津福本町 422

Table 2. Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to oral penicillins cefems and penem

Drug µg/mL	Penicillin G			Ampicillin			Cefaclor			Cefpodoxime			Cefditoren			Faropenem		
	PSSP	PISP	PRSP	PSSP	PISP	PRSP	PSSP	PISP	PRSP	PSSP	PISP	PRSP	PSSP	PISP	PRSP	PSSP	PISP	PRSP
<0.032	16			8			1			3			9	1		18	14	
0.032	1			2			2			4			4	6		3	3	1
0.06	7			8	1		2			4			5	6		3	3	1
0.125		8		2	4		5	4		7	4		3	5	2	1	6	4
0.25		5		4	5		2	2		5	6	2	2	14	5	2	9	12
0.5		14		6	6	1	5	3		4	4		4	10	10	4	12	4
1		19		10	10		4	8		1	13	4	1	3	4	1	1	3
2		21		10	10	2	2	4		2	9	12		5	2		2	2
4		3		6	6	8	2	2		2	2	2		2	2			
8		1		4	4	10	4	9	4	3	3	3						
16		1				5	1	8	6	2	2				1			
32							1	10	15	3	3							
64								1	1	1								
MIC ₉₀	0.06	1	4	0.25	4	16	4	32	32	0.25	8	8	0.5	2	2	0.06	0.5	1

: Resistant strains defined by NCCLS

Table 3. Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to penicillin G, parenteral cefems and carbapenems

Drug µg/mL	Penicillin G			Cefotaxime			Ceftriaxone			Cefepime			Cefozopran			Panipipem			Meropenem		
	PSSP	PISP	PRSP	PSSP	PISP	PRSP	PSSP	PISP	PRSP	PSSP	PISP	PRSP	PSSP	PISP	PRSP	PSSP	PISP	PRSP	PSSP	PISP	PRSP
0.004				4	2	1	4	3	1	2	5	1	3	4	1	5	9	1	4	3	1
0.008					1		2	1		4	1		2	1		2	6	1	4	4	2
0.016	16			5	4	1	5	2		5	1		4	3		14	12	4	9	6	2
0.032	1			2			1			3	2		1	2	1	2	15	7	3	4	2
0.06	7			4	2	1	3	2	1	1			1		1		2	2	1	1	1
0.125		8		3	1		5	5	1	4	3	1	3	5	2	4	4	11	2	1	2
0.25		5		5	13	10	2	13	5	4	8	2	3	6	1	1			1	20	13
0.5		14		3	19	8	1	15	8	4	17	10	6	13	10					7	5
1		19			3	5	1	4	7	8	8	9	2	8	10						1
2		21					1	3		1			4	1							
4		3			1																
8		1																			
16		1																			
MIC ₉₀	0.06	1	4	0.25	0.5	1	0.25	0.5	1	0.5	1	1	0.5	1	1	0.032	0.032	0.125	0.125	0.5	0.5

: Intermediate strains defined by NCCLS

: Resistant strains defined by NCCLS

血清型を Table 4 に示す。PSSP, PISP, PRSP に分けて検討した。PSSP では 23 F 型がもっとも多く 9 株、次いで 6 B 型, 14 型がそれぞれ 4, 3, 3 株ずつ分離された。PISP では 6 B, 23 F, 19 F 型がほぼ同数でそれぞれ 13, 12, 11 株と、この 3 型で PISP の 76% を占めた。PRSP では 6 B が 9 株, 23 F 型が 7 株, 19 F 型が 6 株と PISP に比べやや 6 B, 23 F 型が多かったが、やはりこの主要 3 型で PRSP の 88% を占めた。肺炎球菌ワクチンとの関連でいえば、現在米国で行われている 7 価ワクチンで、全体の 86% (83/97) をカバーできることになる。

次いで PBP 遺伝子の検討を行った (Table 5)。PBP 遺伝子の変異と PCG の感受性との関連をみると、PSSP でも何らかの耐性遺伝子をもつ株が 12/25 株, 50% みられた。PISP, PRSP では全株何らかの耐性遺伝子をもっており、MIC 0.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ですでに 1 A, 2 X, 2 B 3 種に変異をもつ株が存在していた。

最後に重症感染症を起こした 5 例について検討した (Table 6)。敗血症は 2 例, 髄膜炎は 3 例経験した。年齢, 性, 基礎疾患, 血清型に特徴はなかったが, 耐性遺伝子は 5 例中 3 例に 1 A, 2 X, 2 B 3 種の変異がみられた。

III. 考 案

1980 年代に始まった肺炎球菌の多剤耐性化は⁴⁾ここ 10 年で急速に進んだ状況にあり^{5,6)}, 特に小児の重症感染症で治療上問題となる症例が報告されるようになってきている^{7,8)}。今回の検討でもたとえ MIC 上は感受性菌でも, PBP の一部に変異が認められる株の存在があり, PBP 遺伝子の変異に歯止めがかからない状態が続いている。一方で重症感染症以外の治療においては臨床の現場ではそれほど問題が生じていない, という事実もある。実際, 静脈内投与を行う呼吸器感染症の入院症例の小児を治療する上では, たとえ分離菌が今回経験した最高の MIC 値であっても, 投与抗菌薬の血中濃度がその 5~10 倍

Table 4. Distribution of serotypes of *Streptococcus pneumoniae* which are included in heptavalent conjugate vaccine and penicillin G MIC

PCG MIC	Vaccine serotype						Non-vaccine serotype					
	23 F	19 F	6 B	14	9 V	18 C	11 A	15	17 F	20	1	NT
<0.032	6	2	2	2				1	1			2
0.032		1										
0.06	2		2	1							1	1
0.125	2	1	3		1							1
0.25	1	1	1	1								1
0.5	4	3	5		1				1			
1	7	4	3		1	1	1	1			1	
2	6	3	9	1						1		1
4		3										
8	1											
16					1							
Total	29	18	23	5	4	1	1	2	1	2	2	6

PCG: penicillin G

Table 5. PBP genes alterations and penicillin G MIC

PBP alteration	none	2 B	1 A	1 A, 2 B	2 X	1 A, 2 X	2 X, 2 B	1 A, 2 X, 2 B
PCG MIC								
<0.032	10	3		1	2			
0.032	1							
0.06	1		3		1		2	
0.125		1	1		1		3	1
0.25						3	1	1
0.5						7	2	5
1							6	14
2						3	1	17
4								3
8								1
16								1
Total	12	4	4	1	4	13	15	43

PCG: penicillin G

Table 6. Cases contracting invasive pneumococcal infections

Disease	Name	Gender	Age	Underlying disease	PCG MIC	PBP alteration	Serotype
Bacteremia	M. F.	F	6	none	0.5	1 A, 2 X, 2 B	18
		F	1	Klippel-Weber synd	0.06	none	19
Meningitis	A. S.	F	9	ALL	0.5	1 A, 2 X, 2 B	9
	M. U.	F	1	none	0.5	1 A	14
	T. K.	M	6 mo	none	1	1 A, 2 X, 2 B	6 B

PCG: penicillin G

ほど上昇し、組織内以降も良好である、という一般的な β -ラクタム系薬の血行動態であれば、菌側の状況だけで不安を感じるほどのものでもない、というのがわれわれの実感である。ただし今回の検討で示すように、経口抗菌薬のMICの上昇はかなりのものがあり、CDTRであってもすでに最高血中濃度を超えるMICを示す株が分離されるようになっており、抗菌薬の移行の悪い中耳炎の治療に困難をきたすであろうことは容易に想像される⁹⁾。もっともMICの良好なFRPMも組織内移行が良好とはいいがたく¹⁰⁾、現行の小児の経口抗菌薬による肺炎球菌感染症の治療をどのように行うか、考える時期に来ている、と思われる。

薬剤耐性化は実は経口セフェム系薬にとどまらず、静注セフェム系薬にも広がりを見せており、特に菌血症、髄膜炎といった重症感染症に対する第一選択薬をどうするのか早急に決定する必要がある。

一方で、米国で実施されている7価肺炎球菌ワクチンとの関連を見ると、分離株の83%がワクチンでカバーされており、本邦でも導入の検討が急がれるものと思われる。

IV. 結 語

経口抗菌薬に対する肺炎球菌の薬剤耐性はとどまることを知らない状態であり、外来症例の治療方針の指針を示すとともに、ワクチン導入の検討が必要と思われた。

謝 辞

本研究に協力いただいた久留米大学小児科北2研究室の先生方、聖マリア病院検査部、小児内科外来看護婦、保母の皆様、小児内科の先生方、長井孝二郎、金子美香、姫野和歌子、樋口恵美、山下康博、浦部大作前部長に深謝します。

文 献

- 1) 日本化学療法学会 MIC 測定委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定について. *Chemotherapy* 29: 76~77, 1981
- 2) Nagai K, Davis T A, Jacobs M R, et al.: Effects of

amino acid alterations in penicillin-resistant proteins (PBPs) 1 a, 2 b, 3 X on PBP affinities of penicillin, ampicillin, amoxicillin, cefditoren, cefuroxime, cefprozil, and cefaclor in 18 clinical isolates of penicillin-susceptible, -intermediate and -resistant pneumococci. *Antimicrob Agents Chemother* 46: 1273~1280, 2002

- 3) National committee for clinical laboratory standards.: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Ninth informational supplement. M 100-S 9. National committee for clinical laboratory standards. 1999
- 4) Klugman K P, Koornhof H J, Wasas A, et al.: Carriage of penicillin resistant pneumococci. *Arch Dis Child* 61: 377~381, 1986
- 5) McDougal L K, Facklam R, Reeves M, et al.: Analysis of multiply antimicrobial-resistant isolates of *Streptococcus pneumoniae* from the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 36: 2176~2184, 1992
- 6) Klugman K P, Koornhof H J: Bacteremic pneumonia caused by penicillin-resistant pneumococci. *N Eng J Med* 318: 123~124, 1988
- 7) Friedland I R, Klugman K P: Failure of chloramphenicol therapy in penicillin-resistant pneumococcal meningitis. *Lancet* 39: 405~408, 1992
- 8) Mao C, Harper M, McIntosh K, et al.: Invasive pneumococcal infections in human immunodeficiency virus-infected children. *J Infect Dis* 173: 870~876, 1996
- 9) Hausdorff W P, Yothers G, Dagen R, et al.: Multinational study of pneumococcal serotypes causing acute otitis media in children. *Pediatr Infect Dis J* 21: 1008~1016, 2002
- 10) 本廣 孝, 阪田保隆, 山田秀二, 他: 小児におけるファロペネムの基礎的、臨床的検討. *日化療会誌* 43: 238~260, 1995
- 11) Rennels M B, Edwards K M, Keyserling H L, et al.: Safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal vaccine conjugate to CRM 97 in United States infants. *Pediatrics* 101 S: 604~611, 1998

Drug susceptibility and PBP alteration in *Streptococcus pneumoniae*
which were isolated from pediatric patients

Keiko Oda and Shinitirou Oki

Department of Pediatrics, St. Mary's Hospital, 422 Tsubukuhonmachi, Kurume Japan

We analyzed 96 strains of *Streptococcus pneumoniae* isolated from 96 children. Penicillin-nonsusceptible strains comprised 73%. The most effective oral antimicrobial agent was faropenem (MIC₉₀: 0.25 µg/mL). The most effective parenteral antimicrobial agent was panipenem (MIC₉₀: 0.125 µg/mL). PBP gene alterations were seen even in PSSP. According to serotypes in penicillin-nonsusceptible strains, 6 B, 23 F, and 19 F comprised 73% of all isolates, while heptavalent pneumococcal vaccine comprised 83%. This situation should accelerate the use of vaccine in Japanese children.